

**Изучение восприимчивости личинок колорадского жука
Leptinotarsa decemlineata Say, 1824 к энтомопатогенной нематоде
Heterorhabditis bacteriophora Poinar, 1975**

**The study of receptivity of Colorado potato beetle
Leptinotarsa decemlineata Say, 1824 to the entomopathogenic nematode
Heterorhabditis bacteriophora Poinar, 1975**

**А.Е. Рубцова
L.E. Rubtsova**

Институт зоологии НАН Азербайджана, проезд 1128, квартал 504 Баку 370073 Азербайджан
Institute of Zoology, Azerbaijan National Academy of Science, pr. 1128, bl. 504 Baku 370073 Azerbaijan. E-mail: rubtsova_l@mail.ru

Ключевые слова: колорадский жук, энтомопатогенная нематода, биологический инсектицид, личинки, *H. bacteriophora*, заражение.

Key words: Colorado potato beetle, entomopathogenic nematode, biological insecticide, larvae, *H. bacteriophora*, infestation.

Резюме. Изучалась возможность заражения *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 нематодой *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975. В эксперименте использовались личинки колорадского жука. Заражение нематодами производилось путем опрыскивания ботвы картофеля суспензией нематод. Доза внесения составила 300, 500, 700 нем/мл (5мл). При дозе заражения 300 нем/мл смертность личинок в среднем составила 58.85%, 500 нем/мл – 72.25%, 700 нем/мл – 81.65%. Смерть наступала в течение 3–5 дней после заражения. В трупах личинок наблюдалось развитие нематод, протекавшее неравномерно. В отдельных личинках наблюдались мертвые половозрелые особи нематод и мертвые особи дочернего поколения.

Abstract. Possibility of receptivity of Colorado potato beetle (CPB) *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 by entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 was studied. The larvae of infected CPB was used. Receptivity by nematodes were applied by spraying of potato leaves with 5 cc of the nematode suspension 300, 500 and 700 nematodes/cc. The mortality of larvae after 300 nematodes/cc was 58.85%, after 500 nematodes/cc – 72.25% and after 700 nematodes/cc – 81.65%. The death of larvae was during 3–5 days after application. Nematode's development inside dead CPB larvae varied. Some larvae had dead adult nematode and dead pre-adult nematodes.

Введение

Энтомопатогенная нематода *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (Rhabditida: Heterorhabditidae) описана в 1975 году [Poinar, 1975]. В ее кишечнике были обнаружены симбиотические бактерии [Poinar et al., 1977], наличие которых объясняет высокую патогенность этой нематоды по отношению ко многим видам насекомых [Ciche et al., 2006]. Первоначально найденная бактерия была отнесена к роду *Xenorhabdus* Thomas et Poinar, 1979 и описана как *Xenorhabdus luminescens* [Thomas, Poinar, 1979]. В дальнейшем был описан новый род *Photorhabdus* (*Enterobacteriaceae*), куда и поместили указанный таксон, переименовав его в *Photorhabdus luminescens* [Voemare et al., 1993]. Свое

название она получила за способность к свечению. Характерной особенностью *H. bacteriophora* является то, что трупы зараженных ею насекомых принимают буровато-красный цвет и в темноте издают слабое свечение вследствие наличия в них размножающихся бактерий *P. luminescens*. Последние вызывают септицемию у насекомых, приводя их к смерти. В дальнейшем бактерии создают в трупе насекомого условия для питания, развития и размножения нематод. Нематоды, лишённые бактерий *P. luminescens*, не способны убить насекомое и продолжить свой жизненный цикл [Han, Ehlers, 2000; Ciche et al., 2001]. Бактерии вырабатывают метаболиты, которые препятствуют заселению трупа насекомого другими микроорганизмами. Помимо этого, бактерии выделяют токсины, мешающие развитию конкурентным нематодам, которые могут попасть в насекомое, таким образом проявляя трансспецифическую активность [Han, Ehlers, 1999].

Средой обитания *H. bacteriophora* является почва, но ее развитие и размножение проходит в насекомом-хозяине. Жизненный цикл *H. bacteriophora* включает яйцо, 4 личиночных стадии и взрослую особь, но только личинки III возраста, которые являются свободноживущими, заражают насекомое-хозяина. Личинки III возраста активно двигаются в почве в поиске насекомого-хозяина. Для проникновения в хозяина нематоды используют естественные отверстия насекомых – рот, дыхальца, анус. У личинок III возраста имеется буккальный зуб, при помощи которого они могут разрушать кутикулу насекомого [Bedding, Molyneux, 1982; Ciche, Sternberg, 2007]. Проникнув в насекомое, нематоды отгрызают в гемоцель хозяина симбиотических бактерий, и насекомое погибает от септицемии. Бактерии служат питанием для нематод, они не способны к самостоятельному существованию и проникновению в насекомых. Нематоды выполняют для бактерий защитную и транспортную функции, снабженные бактериями, они приводят насекомое к смерти обычно в течение 24–48 часов [Woodring, Kaуa, 1988; Jessen et al., 2000; Ciche, Ensign, 2003]. Цикл развития в мертвом насекомом занимает 12–14 дней.

Несмотря на огромные усилия и затраты, предпринимаемые в области сельского хозяйства, химии, биологии, борьба с колорадским жуком остается неиссякаемой проблемой. Потери урожая от вредителя продолжают беспокоить производителей одного из основных продуктов питания во многих странах мира. Борьба с колорадским жуком ведется в основном при помощи химических средств, что в конечном итоге может отразиться на здоровье населения. Колорадский жук менее восприимчив к заражению нематодой *H. bacteriophora*, чем многие другие виды насекомых. Уже на первоначальном этапе заражения вступают в действие существующие естественные факторы, которые могут препятствовать инфицированию. Одним из этих факторов являются экскременты колорадского жука, которые отталкивают нематод, а также мешают развитию уже попавших в кишечник [Stewart et al., 1998]. Мы провели эксперименты, связанные с изучением воздействия энтомопатогенной нематоды *H. bacteriophora*, которая уже применяется в качестве биологического инсектицида против различных вредителей, на личинках колорадского жука.

Материалы и методы

Нематоды *H. bacteriophora* культивировались на гусеницах большой вошдиной моли *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) [Dutky et al., 1964]. Данная методика была описана для культивирования в лабораторных условиях нематод семейства Steinernematidae, в настоящий момент она является классической и для видов, относящихся к Heterorhabditidae. Полученная культура нематод хранилась в холодильнике в 0.65% растворе NaCl при температуре +7... +9°C.

Личинки колорадского жука были собраны в Куба-Хачмасской зоне Азербайджана. Предварительно из общего количества насекомых было спонтанно взято 60 личинок *L. desemlineata*, которые обследовались на естественную зараженность гельминтами. Получен отрицательный результат. В эксперименте использовались личинки жуков IV возраста. В стационарелички колорадского жука поддерживались на ботве растений картофеля. Растение-прокормитель выращивалось в пластиковых сосудах в лабораторных условиях. Для экспериментов использовались большие чашки Петри, дно которых выстилалось кружком фильтровальной бумаги. На фильтровальную бумагу помещались листья картофеля и по 30 экз. личинок *L. desemlineata*, которые затем опрыскивались при помощи медицинского шприца пятью миллилитрами суспензии нематод. В каждой чашке была представлена одна повторность. Всего на каждую испытываемую дозу – 300 нем/мл, 500 нем/мл, 700 нем/мл – проводилось по 2 серии экспериментов в трех повторностях каждая. В контроле личинки жуков обрабатывались 5 мл дистиллированной воды. Наблюдение за экспериментальными насекомыми проводилось в течение 7 дней со дня заражения. В течение этого срока из чашек Петри отбирались погибшие личинки, которые через 15 дней вскрывались и исследовались на наличие в них нематод *H. bacteriophora*. Погибшими от нематод считались насекомые, в полости которых при вскрытии обнаруживались нематоды. Эксперимент проводился при температуре 25–26°C.

Результаты

Как было отмечено выше, каждая доза испытывалась в 2-х сериях при 3-х повторностях и каждая повторность состояла из 30 личинок колорадского жука. Таким образом, в эксперимент с каждой дозой отбиралось по 180 экз. насекомых. В таблице 1 отражены результаты проведенных исследований.

Мы видим, что при дозе внесения 300 нем/мл первые личинки, в количестве 5 и 3, в I и II сериях соответственно, погибли на 3 день после заражения. На четвертый и пятый день отмечено наибольшее количество погибших насекомых. Шестой и седьмой дни характеризуются низкой смертностью. В первой серии из 90 экспериментальных личинок жука погибло 51 насекомое, что составляет 56.6%. Во второй серии смерть наступила у 55 жуков – 61.1%. Средний результат смертности по двум сериям при дозе внесения 300 нем/мл составил 58.5%.

При увеличении количества вносимых нематод до 500 нем/мл первые личинки, в количестве 5 и 7, в I и II сериях соответственно, погибли на второй день после заражения. Пик гибели личинок жука приходится на третий и четвертый дни. Пятый и шестой дни характеризуются снижением смертности и отсутствием последней на седьмой день. При указанной выше дозе внесения нематод в I серии из 90 насекомых погибло 69, что соответствует 76.6%, во II серии мертвым оказалось 61 насекомое, или 67.8%. Средний результат смертности по двум сериям при дозе внесения 500 нем/мл составил 72.25%.

Внесение 700 нем/мл характеризуется наибольшей смертностью личинок жуков и наступлением смерти уже на следующий после заражения день. Однако количество мертвых насекомых невелико – 2 и 3 в I и II сериях соответственно. На вторые сутки произошло некоторое увеличение смертности, пик которой наступает на третий и четвертый дни. Пятый и шестой дни характеризуются резким снижением количества погибших личинок *L. desemlineata* с полным отсутствием мертвых насекомых на седьмой день. При указанной дозе внесения нематод в I серии погибло 75 личинок жука – 83.3%, во II – 72 личинки – 81.65%.

Выше было сказано, что мертвые насекомые вскрывались на 15-й день после наступления смерти, так как цикл развития нематоды *H. bacteriophora* в мертвом насекомом составляет 12–14 дней. Нам было необходимо выяснить, произойдет ли развитие нематод в трупах личинок колорадского жука. В литературе существуют противоречивые данные, вплоть до утверждения, что *H. bacteriophora* вообще не развивается в *L. desemlineata* [Berry et al., 1998]. Результаты наших наблюдений не подтверждают последнего и отражены в таблице 2.

Отмечено, что на 15-й день после наступления смерти насекомых в их трупах присутствуют еще не достигшие половой зрелости, т. е. развивающиеся личинки нематод. В большинстве погибших насекомых нематоды находились на половозрелой стадии развития, только в небольшом количестве мертвых личинок мы наблюдали дочернее поколение. Из результатов этих наблюдений можно прийти к выводу, что цикл развития *H. bacteriophora* в мертвых личинках *L. desemlineata* замедлен.

Обсуждение

Результаты проведенных экспериментов показали, что с увеличением дозы внесения нематод процент смертности личинок колорадского жука возрастает от 58.85%, при дозе 300 нем/мл до 81.65% при дозе 700 нем/мл. Также уменьшаются сроки наступления смерти насекомых, причем пик смертности при дозе 300 нем/

мл приходится на четвертый и пятый дни, при 500 и 700 нем/мл на третий и четвертый дни.

Сроки наступления смерти личинок колорадского жука и развития нематод в них отличаются от характерных для биологии *H. bacteriophora* сроков – 12–14 дней.

Объяснением этого, на наш взгляд, может служить тот факт, что колорадский жук имеет более сильную

Таблица 1. Результаты заражения личинок *L. desemlineata* нематодой *H. bacteriophora*.

Table 1. The results of receptivity of larvae of *L. desemlineata* by *H. bacteriophora*.

| Дни наступления смерти Days of death | Количество погибших насекомых Number of dead insects | | | | | |
|--|---|-------------|-------------|-----------------------------------|-------------|-----------|
| | Доза внесения нематод Doze of entering of Nematoda | | | | | |
| | I серия / 1 st series | | | II серия / 2 nd series | | |
| | 300 | 500 | 700 | 300 | 500 | 700 |
| I | – | – | 2 | – | – | 3 |
| II | – | 5 | 13 | – | 7 | 12 |
| III | 5 | 18 | 24 | 3 | 19 | 21 |
| IV | 17 | 29 | 34 | 22 | 32 | 33 |
| V | 24 | 11 | 5 | 26 | 2 | 2 |
| VI | 4 | 6 | – | 1 | 1 | 1 |
| VII | 1 | – | – | 3 | – | – |
| ВСЕГО ALL | 51 | 69 | 75 | 55 | 61 | 72 |
| % смертности % of death-rates | 56.6 | 76.7 | 83.3 | 61.1 | 67.8 | 80 |

иммунную систему, чем другие насекомые, смерть которых при заражении нематодами *H. bacteriophora* наступает в течение 24–48 часов. Помимо этого, колорадский жук обладает токсинами, которые вначале препятствуют деятельности нематод, а потом могут тормозить их развитие.

Другим интересным, на наш взгляд, фактом является то, что мы в большинстве погибших личинок *L. desemlineata* обнаружили мертвых половозрелых нематод. Можно высказать предположение, что с кормом в организм насекомого попадает большее количество нематод, чем то, которое может в нем полностью развиваться. Вследствие высокой интенсивности инвазии нематоды погибают от отравления продуктами собственного метаболизма.

Возникает другой вопрос – почему погибло дочернее поколение нематод? Здесь можно предположить, что отродившиеся личинки не смогли разрушить плотную кутикулу *L. desemlineata*, а естественные отверстия насекомого – рот, анус, дыхальца – не дают возможности выхода такого большого количества дочерних личинок. При развитии нематод в гусеницах Lepidoptera у последних ослабевают связи между сегментами, и гельминты легко высвобождаются. Мертвые гусеницы под воздействием жизнедеятельности нематод порой превращаются в кашу.

Ранее нами были проведены эксперименты по заражению личинок *L. desemlineata* нематодой

Steinernema carpocapsae (Weiser, 1955) дозами 300 и 550 нем/мл. Смертность личинок жука составила 43.3% и 65% в соответствии с дозой заражения, но пик смертности приходился на второй и третий дни после заражения [Рубцова, 2005]. При заражении 700 нем/мл смертность личинок жука достигла 52.77%, пик смертности личинок колорадского жука также приходился на второй и третий дни после внесения нематод [Рубцова, 2008]. Мы также обратили внимание на неравномерность развития нематод в мертвых насекомых, содержащихся в одинаковых условиях.

Следует обратить внимание на тот факт, что при заражении нематодой *H. bacteriophora* процент смертности личинок *L. desemlineata* выше, чем при заражении *S. carpocapsae*, но пик смертности жуков при внесении последней приходится на 2 и 3 дни, в отличие от *H. bacteriophora* (3–4-й день). Известно, что виды нематод родов *Steinernema* и *Heterorhabditis* содержат в своем кишечнике симбиотические бактерии, которые и приводят насекомых к смерти, а также обеспечивают в дальнейшем условия питания и развития гельминтов в трупах насекомых. Остается предположить, что симбиотические бактерии *Xenorhabdus nematophilus* быстрее приводят насекомое к септицемии, которая и является причиной смерти насекомого, чем симбиотические бактерии *Photorhabdus luminescens*, содержащиеся в кишечнике *H. bacteriophora*.

Наши эксперименты показали, что личинки

Таблица 2. Результаты вскрытия мертвых личинок *L. desemlineata*, зараженных нематодой *H. bacteriophora*Table 2. The results of opening of dead larvae of *L. desemlineata*, infected by *H. bacteriophora*

| Стадия развития нематод в мертвом насекомом Stage of development of nematodes in dead insects | Количество погибших насекомых Number of dead insects | | | | | |
|--|---|----------|---------|-----------------------------------|----------|----------|
| | Доза внесения нематод Doze of entering of Nematoda | | | | | |
| | I серия / 1 st series | | | II серия / 2 nd series | | |
| | 300 | 500 | 700 | 300 | 500 | 700 |
| Развивающиеся Pre-adult | 19 | 16 | 15 | 21 | 9 | 11 |
| Половозрелые Adult | 25 (8)* | 41 (10)* | 46 (5)* | 28 (11)* | 37 (13)* | 42 (17)* |
| Дочернее поколение The 2 nd generation | 7(3) | 12(5) | 14(4) | 6(4) | 15(7) | 19(7) |
| ВСЕГО ALL | 51 | 69 | 75 | 55 | 61 | 72 |

(*)° – количество насекомых, в которых были обнаружены мертвые нематоды, на указанных стадиях их развития.

нематод, проникшие в личинок колорадского жука, привели последнего к смерти, но, что более важно, смогли продолжить в них свой цикл развития. В литературе имеются данные экспериментов зарубежных исследователей, которые сообщают об отсутствии развития *H. bacteriophora* в трупах личинок жука [Berry et al., 1998]. Другие исследователи сообщают об отсутствии развития в колорадском жуке и другого вида из рода *Heterorhabditis* – *H. marelata* Liu et Berry, 1996 [Armer et al., 2004].

В заключение можно сказать, что в лабораторных условиях при заражении личинок колорадского жука энтомопатогенной нематодой *H. bacteriophora* получены убедительные положительные результаты. Но прежде чем говорить о возможности рекомендации *H. bacteriophora* и *S. carpocapsae* в качестве биологических инсектицидов в контроле за колорадским жуком, необходимы неоднократные дополнительные лабораторные и полевые эксперименты.

Литература

- Рубцова А.Е. 2005. Экспериментальное заражение двух видов жесткокрылых (Coleoptera: Chrysomelidae; Vuprestidae) энтомопатогенной нематодой *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Nematoda: Steinernematidae) // Кавказ. энтомол. бюлл. 1(2): 113–117.
- Рубцова А.Е. 2008. Сравнительное изучение патогенности двух штаммов нематоды *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) («*agriotos*» и *DD-136*) при заражении личинок колорадского жука в лабораторных условиях // Proc. of Azerb. Soc. of Zool. 1: 358–362.
- Armer C.A., Berry R.E., Reed G.L., Jepsen S.J. 2004. Colorado potato beetle control by application of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis marelata* and potato plant alkaloid manipulation // Ent. Exp. et Appl. 111(1): 47–58.
- Bedding R.A., Molyneux A.S. 1982. Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (*Heterorhabditidae*: *Nematoda*) // Nematologica 28: 354–359.
- Berry R.E., Liu J., Reed G. 1998. Comparison of endemic and exotic entomopathogenic nematode species for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) // J. Econ. Entomol. 90(6): 1528–1533.
- Boemare N.E., Akhurst R.J., Mourant R.G. 1993. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. // Int. J. Syst. Bact. 43: 249–255.
- Ciche T.A., Bintrim S.B., Horswill A.R., Ensign J.C. 2001. A Phosphopantetheinyl transferase homolog is essential for *Photorhabdus luminescens* to support growth and reproduction of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* // J. Bacteriol. 183: 3117–3126.
- Ciche T.A., Darby C., Ehlers R.-U., Forst S., Goodrich-Blair H. 2006. Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria // Biological Control. 38: 22–46.
- Ciche T.A., Ensign J.C. 2003. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? // Appl Environ Microbiol. 69: 1890–1897.
- Ciche T.A., Sternberg P.W. 2007. Postembryonic RNAi in *Heterorhabditis bacteriophora*: a nematode insect parasite and host for insect pathogenic symbionts // BMC Dev Biol. 7: 101.
- Dutky S.R., Thompson J.V., Cantwell G.E. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematodes // Insect. Path. 6: 417–422.
- Han R., Ehlers R.U. 1999. Trans-specific nematicidal activity of *Photorhabdus luminescens* // Nematology. 1(7–8): 687–693.
- Han R.C., Ehlers R.U. 2000. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions // J. Invertebr. Pathol. 75: 55–58.
- Jessen P., Strauch O., Wyss U., Luttmann R., Ehlers R.U. 2000. Carbon dioxide triggers recovery from dauer juvenile stage in entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis* spp.) // Nematology. 2(3): 319–324.
- Poinar G.O.Jr. 1975. Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen., n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.) // Nematologica. 21: 463–470.
- Poinar G.O.Jr., Thomas G.M., Hess R. 1977. Characteristics of the specific bacterium associated with *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) // Nematologica. 23: 97–102.
- Thomas, G.M., and Poinar, G.O.Jr. 1979. *Xenorhabdus* new genus of entomopathogenic nematophilic bacteria of the family Enterobacteriaceae // Int. J. Syst. Bacteriol. 29: 352–360.
- Stewart J.G., Boiteau G., Kimpinski J. 1998. Management of late-season adults of Colorado potato beetle with entomopathogenic nematodes // Can. Entomol. 130(4): 509–514.
- Woodring J.L., Kaya H.K. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of biology and techniques // South. Coop. Ser. Bull. 331: 1–30.

References

- Armer C.A., Berry R.E., Reed G.L., Jepsen S.J. 2004. Colorado potato beetle control by application of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis marelata* and potato plant alkaloid manipulation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 111(1): 47–58.
- Bedding R.A., Molyneux A.S. 1982. Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). *Nematologica*. 28: 354–359.
- Berry R.E., Liu J., Reed G. 1998. Comparison of endemic and exotic entomopathogenic nematode species for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*. 90(6): 1528–1533.
- Boemare N.E., Akhurst R.J., Mourant R.G. 1993. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 43: 249–255.
- Ciche T.A., Ensign J.C. 2003. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 1890–1897.
- Ciche T.A., Bintrim S.B., Horswill A.R., Ensign J.C. 2001. A Phosphopantetheinyl transferase homolog is essential for *Photorhabdus luminescens* to support growth and reproduction of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Bacteriology*. 183: 3117–3126.
- Ciche T.A., Darby C., Ehlers R.-U., Forst S., Goodrich-Blair H. 2006. Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. *Biological Control*. 38: 22–46.
- Ciche T.A., Sternberg P.W. 2007. Postembryonic RNAi in *Heterorhabditis bacteriophora*: a nematode insect parasite and host for insect pathogenic symbionts. *BMC Developmental Biology*. 7: 101.
- Dutky S.R., Thompson J.V., Cantwell G.E. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematodes. *Journal of Insect Pathology*. 6: 417–422.
- Han R., Ehlers R.U. 1999. Trans-specific nematicidal activity of *Photorhabdus luminescens*. *Nematology*. 1(7–8): 687–693.
- Han R.C., Ehlers R.U. 2000. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*. 75(1): 55–58.
- Jessen P., Strauch O., Wyss U., Luttmann R., Ehlers R.U. 2000. Carbon dioxide triggers recovery from dauer juvenile stage in entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis* spp.). *Nematology*. 2(3): 319–324.
- Poinar G.O.Jr. 1975. Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen., n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.). *Nematologica*. 21: 463–470.
- Poinar G.O.Jr., Thomas G.M., Hess R. 1977. Characteristics of the specific bacterium associated with *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Nematologica*. 23: 97–102.
- Rubtsova L.E. 2005. Experimental infection of two species of beetles (Coleoptera: Chrysomelidae; Buprestidae) by entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae). *Caucasian Entomological Bulletin*. 1(2): 113–117 (in Russian).
- Rubtsova L.E. 2008. A comparative study of pathogenicity of two strains of nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (“agriotos” and DD-136) during infection Colorado potato beetle larvae in the laboratory. In: Trudy obshchestva zoologov Azerbaydzhana [Proceedings of Azerbaijanian Society of Zoologists]. Vol. 1. Baku: Elm: 358–362 (in Russian).
- Stewart J.G., Boiteau G., Kimpinski J. 1998. Management of late-season adults of Colorado potato beetle with entomopathogenic nematodes. *The Canadian Entomologist*. 130(4): 509–514.
- Thomas G.M., Poinar Jr.G.O. 1979. *Xenorhabdus* gen. nov., a genus of entomopathogenic nematophilic bacteria of the family Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 29: 352–360.
- Woodring J.L., Kaya H.K. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of biology and techniques. In: Southern Cooperative Series Bulletin. No 331. Arkansas: Arkansas Agricultural Experiment Station: 1–30.